

处理生物难降解物质的有效方式——共代谢

董春娟, 吕炳南, 陈志强, 马立, 苏秀英

(哈尔滨工业大学 市政与环境工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150090)

〔摘要〕介绍了共代谢的类型、特点和影响因素。共代谢过程针对各种生物难降解物质需选择各自合适的一级基质, 而且一级基质与难降解物质需保持合适的浓度比; 共代谢过程中微生物不仅需要足够的 C、N、P 等营养元素, 而且微量营养元素的加入也是必须的。考虑各方面因素并有效地控制才能使难降解物质达到较高的共代谢率。

〔关键词〕难降解有机物质; 生物降解; 共代谢; 废水处理

〔中图分类号〕X172 〔文献标识码〕A 〔文章编号〕1006-1878(2003)02-0082-05

共代谢是一种很独特的代谢方式, 某些有毒难降解物质不能被微生物直接降解, 但添加易被微生物降解的物质如葡萄糖、乙醇等, 则可以促进或启动难降解物质的降解, 并将其导入循环。本文介绍了共代谢的类型、特点和影响因素。

1 共代谢的类型

1.1 共代谢的定义

共代谢是指微生物在有它可利用的惟一碳源存在时, 对它原来不能利用的物质也能分解代谢的现象。例如: 甲烷假单胞菌惟一能利用的碳源是甲烷, 如果有甲烷存在时同时加入乙烷、丙烷和丁烷, 则该菌也能把这些烃类氧化为乙酸、丙酸、丁酸。共代谢作用是由美国德克萨斯大学的 Leadbetter 和 Foster 发现的, 最初定义为: 当培养基中存在一种或

多种用于微生物生长的烃类时微生物对作为辅助物质的、非用于生长的烃类的氧化作用。我们把用于生长的物质称为一级基质, 非用于生长的物质称为二级基质。

1.2 难降解物质的定义

生物难降解物质, 一般是指微生物不能降解或降解速率很慢的物质。值得注意的是, 通常研究确定污染物生物可降解性的方法是, 将受试物质作为微生物的惟一碳源和能源, 而没有考虑微生物是否能在外加碳源的情况下降解这些受试物质。因此, 依据传统方法所确定的生物难降解物质, 有必要将共代谢作用考虑在内, 重新评价。共代谢作用可以

〔收稿日期〕2002-06-01; 〔修订日期〕2002-06-25

〔作者简介〕董春娟(1970—), 女, 山西省临汾市人, 哈尔滨工业大学在读博士生, 太原大学讲师, 主要从事水污染控制方面的研究。

Application of Modern Separation Technology in Environmental Protection

Wang Baohua¹, Li Qunsheng², Zhang Zeting², Xu Jingnian²

(1. College of Chinese Traditional Medicine, Beijing University of Chinese Traditional Doctor and Medicine, Beijing 100029, China;

2. College of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract Several modern separation technologies, such as Linde sieve tray with high performance, new type of packing material with high performance, supercritical fluid extraction and so on are introduced, and their application in cleaner production and waste treatment are described.

Key words separation technology; Linde sieve tray; high performance packing material; supercritical fluid extraction

提高微生物降解难降解物质的效率。Hendriksen 等^[1]证实,常规的颗粒污泥可以使水中的五氯酚脱氯,但五氯酚的去除率仅为 30%~75%,当进水中补充葡萄糖后五氯酚的去除率可提高至 99%。Grave 和 Joyce^[2]发现,漂白厂的废水对产甲烷菌有抑制作用,但当用甲醇或乙醇作一级基质时可以提高此废水中难生化有机卤化物的去除率。

1.3 共代谢的类型

共代谢一般有以下几种:

(1) 生物在正常生长代谢过程中对二级基质的共同氧化。这种代谢是指当一级基质存在时,一级基质的代谢能够提供足够的碳源和能源供微生物生长,并诱导产生相应的降解酶来降解二级基质。何苗等^[3]报道,杂环化合物及多环芳烃的生物降解需要一个完整的厌氧微生物食物链系统,葡萄糖的存在可为相关的微生物提供碳源和能源,另外,葡萄糖经相关微生物的代谢还可为受试有机物的开环提供必须的还原力和各种辅酶。付莉燕等^[4]考察了厌氧条件下废水中活性染料(活性翠蓝)的生物降解,发现以活性翠蓝为单一碳源时,厌氧菌不能降解活性翠蓝,但当进水中补充葡萄糖后,厌氧菌对葡萄糖和活性翠蓝产生了共代谢作用,活性翠蓝被降解。

(2) 微生物间的协同作用。这种代谢是指有些污染物的降解并不导致微生物的生长和能量的产生,它们只是在微生物利用一级基质时被微生物产生的酶降解或转化为不完全氧化产物,这种不完全氧化产物进而被另一种微生物利用并彻底降解。Widdel 证明,对普通的脱硫弧菌属和铜绿假单胞菌属在用苯甲酸单独培养时,均不能利用苯甲酸,但当两者在含有苯甲酸和 SO_4^{2-} 的基质中共同培养时,苯甲酸即可彻底被生物降解,同时 SO_4^{2-} 被还原为 H_2S ;生物膜或颗粒污泥的形成能有效地发挥微生物间的协同作用,提高难降解物质的生物降解率^[5]。

(3) 一级基质不存在时休眠细胞对二级基质的利用。瞿福平^[6]研究了氯苯类有机物的生物降解,分别用氯苯、邻二氯苯、间二氯苯、对二氯苯、1,2,4-三氯苯溶液驯化污泥,并使其中微生物处于内源呼吸阶段,然后用这些污泥对这 5 种有机物在不同浓度下的降解进行了研究,发现用氯苯、邻二氯苯、间二氯苯溶液驯化的污泥,能够有效地相互降解,它们诱导的酶系统具有一个共同特征,即要求被作用的

二级基质苯环上至少具有一个“连续三空结构”;对二氯苯、1,2,4-三氯苯缺乏“连续三空结构”,因而不能被由上述 3 种有机物驯化的污泥降解,而用这 2 种有机物驯化的污泥诱导的酶系统,作用的二级基质范围更宽,只要求二级基质苯环上至少具有一个“连续二空结构”即可,所以用这 2 种有机物驯化的污泥能够降解所有受试的 5 种有机物。由此可见,共代谢作用在氯代苯的生物降解中能发挥重要作用,因此可考虑利用此技术来驯化和富集高效降解菌株。

2 共代谢的特点和影响因素

2.1 共代谢的特点

共代谢具有以下特点:二级基质的代谢产物不能用于微生物的生长,有些代谢产物甚至对微生物有毒害作用;共代谢是需能的,需一级基质代谢提供碳源和能源;代谢二级基质的酶来自于微生物对一级基质的利用,一级基质和二级基质之间存在竞争性抑制。

2.2 共代谢的影响因素

共代谢是一综合性过程,需考虑各方面因素并加以有效控制才能达到较高的难降解物质共代谢率。

2.2.1 一级基质的选择

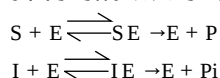
对于难降解物质的共代谢过程,一级基质的选择是非常重要的。一般选择葡萄糖、蛋白胨、蔗糖、甲醇、乙醇、乳酸盐、乙酸盐、丁酸盐、淘米水、谷氨酸、生活污水等生物易降解的物质作为一级基质,但并不是所有生物易降解物质的加入都能获得较高的共代谢率。罗宇煊^[7]报道,作为一级基质的葡萄糖、乳糖、蔗糖、可溶淀粉等物质中,蔗糖是嗜碱性木质素降解菌最理想的一级基质。Gupta 等^[8]的研究表明,在产甲烷菌作用环境下降解废水中的三氯甲烷时,甲醇是比乙酸盐更好的一级基质。所以,对各种生物难降解物质,应选择各自合适的一级基质。另外,在某些情况下也可选择二级基质的类似物或中间代谢产物作为一级基质,这主要是针对代谢酶的可诱导性而提出的。Duran 等发现,在厌氧条件下硝化纤维的生物降解非常缓慢,但补充纤维素作为一级基质后会使其降解速率提高。瞿福平等^[6]也认为,共代谢可在氯代苯的生物降解过程中发挥重要作用,发生共代谢的主要原因在于 5 种受试有

肌物结构的相似性和诱导酶的非专一性。Michael 认为,苯酚的存在有利于氯酚的生物降解。巩宗强^[9]报道,向土壤中加入多环芳烃的代谢中间产物——水杨酸、邻苯二甲酸、琥珀酸钠等有机物,能提高微生物酶的活性,促进其共代谢降解过程的进行,处理 25 d 后其的降解率可达 80%,其中以琥珀酸钠作为共代谢的一级基质最好。

2.2.2 一级基质与二级基质的浓度比

Speece^[5]报道,共代谢过程要求一级基质与二级基质保持合适的浓度比。对于许多生物难降解物质,一级基质与二级基质的浓度比比生物难降解物质的进水浓度对其降解率的影响更大。例如,如果废水中不存在其他可生物降解的有机物,则三氯甲烷的质量浓度为 3 mg/L 时即可能对微生物有破坏作用,但是如果废水中同时存在质量浓度为 3000 mg/L 的甲醇时,则用适当浓度的三氯甲烷驯化微生物后,三氯甲烷的质量浓度仍为 3 mg/L 时对生化处理系统的连续运行几乎没有什么影响。

由于维持共代谢的微生物酶来自于微生物对一级基质的利用,二级基质的利用也只能在一级基质消耗的基础上发生,所以一级基质和二级基质之间存在着竞争性抑制。它们的反应动力学可以用具有竞争性抑制的酶动力学来描述:



式中:

S, I ——分别为不同的基质;

E ——酶;

SE, IE ——分别为不同的酶反应中间产物;

P, P_i ——分别为不同的产物。

竞争性抑制的反应模型为:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{k_{max}SX}{K_s(1 + \frac{I}{K_i}) + S}$$

式中:

$\frac{dS}{dt}$ ——单位容积反应器的基质利用速率, mg/(L·d);

S ——基质的质量浓度, mg/L;

k ——比基质利用速率, g/(g·d);

X ——活性污泥的质量浓度, mg/L;

K_s ——半饱和系数, mg/L;

K_i ——抑制系数, mg/L;

I ——抑制剂的质量浓度, mg/L。

上式表明,二级基质为抑制剂时,二级基质不影响一级基质的最大利用速率,却会降低给定一级基质的利用速率。但对于二级基质而言,把一级基质当作抑制剂,一级基质的浓度过高反而会降低二级基质的利用速率。因此,二级基质的利用速率必须通过维持适当的一级基质浓度来达到最优化(McCarty)。王永杰^[10]研究发现,在用有机磷农药广谱活性降解菌以共代谢方式降解废水中的有机磷农药时,一级基质的浓度过高,会抑制降解酶的诱导产生,有机磷农药降解率不高;一级基质的浓度过低,菌体生长代谢受到抑制,有机磷农药降解率也不高。因此,只有一级基质的浓度适当,才能既保证细胞的生理功能正常,又能满足降解酶的诱导产生。罗宇焯^[7]采用嗜碱性木质素降解菌以共代谢方式降解废水中的木质素,发现一级基质蔗糖的浓度过高时,菌株不但产酶能力减弱,而且更多地利用易于降解的蔗糖,以致削弱了对二级基质木质素的降解。Bukel 观察到,以甲醇为一级基质可以快速生物降解三氯甲烷和三氯乙烯,表现出最小抑制,但一级基质浓度过高并不能提高三氯甲烷和三氯乙烯的降解率。王 等^[11]用淘米水作共代谢的一级基质,进行一级基质投加量对焦化废水难降解物 COD 去除影响的试验,发现其影响较大,一级基质淘米水的适宜投加量为 20%~40% (淘米水贡献的 COD 占所配废水总 COD 的百分比,下同),最优投加量为 30%。

2.2.3 能量物质

除了一级基质的产能代谢为微生物生长和生物难降解物质降解提供能量外,也可以考虑外加适量能量物质提供额外能量,以提高难降解物质代谢的速率。能量物质是指在难降解物质代谢过程中,只产生能量而不能转化为细胞的物质。试验中观察到,适量甲酸(作为能量物质)的加入能较大幅度地提高甲烷细菌共代谢的速率,但长期投加甲酸会抑制甲烷细菌的活性,这是因为长期投加甲酸会导致微生物细胞的逐渐衰竭。

2.2.4 营养物质

微生物的生长必须有足够的营养。共代谢不仅需要加入一级基质提供碳源,而且还需要足够的氮、磷、硫等营养。并不是所有碳源的加入都能获得较高的共代谢率,罗宇焯等^[7]采用不同碳源对嗜碱性

木质素降解菌降解木质素的能力进行了比较试验,发现在葡萄糖、乳糖、蔗糖、可溶淀粉等碳源中蔗糖是嗜碱性木质素降解菌最理想的碳源,所以对各种难降解物质应选择各自合适的碳源;碳氮比对菌株产酶的能力有很大影响,限碳培养基有利于酶的合成,限氮培养基对酶的合成极为不利,而且碳氮质量比以 11.2 为宜,在此条件下,能较大幅度地提高酶的活性和木质素的降解率。微量营养元素对微生物生长也是必须的^[5],营养不足会使厌氧处理的有机负荷减小或处理效率降低。 B_{12} 的加入能有效地提高氯化脂肪族化合物的共代谢脱氯率^[12]。Guiot^[13]报道,微量元素的补充可以提高所有种群微生物中活细胞的浓度及其酶活性。王 等^[12]研究发现,添加 Fe^{3+} 能促进焦化废水中生物难降解物质的共代谢降解。

2.2.5 表面活性剂

罗宇煊等^[7]研究发现,添加表面活性剂有利于木质素降解微生物胞外酶的分泌,从而促进胞外高分子木质素的降解。他们认为,表面活性剂 T-80 在静置浅层培养液中的作用可能主要是提高细胞膜的渗透性,从而可提高酶活性,进而促进菌株对木质素的降解。

3 结语

许多传统意义上的难降解物质的生物降解均是以共代谢过程开始而完成降解全过程的,共代谢过程不仅要选择合适的一级基质,而且要求一级基质与难降解物质保持合适的浓度比,此外,营养物质的加入对提高共代谢率也是很重要的,不仅要注意常用营养氮、磷等的加入及其配比,还要注意微量营养元素的加入。共代谢是一综合性过程,需考虑各方面因素并加以有效控制才能达到较高的难降解物质共代谢率。

参考文献

- 1 H. V. Hendriksen, B. K. Ahring. Anaerobic Dechlorination of Pentachlorophenol in Fixed-Film and Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactors Using Different Inocula[J]. Biodegradation, 1992, 3: 339
- 2 J. W. Grave, T. W. Joyce. A Critical Review of the Ability of Biological Treatment Systems to Remove Chlorinated Organics Discharged by the Paper Industry[J]. Water SA, 1994, 20: 155 ~ 160
- 3 何苗, 张晓健, 瞿福平. 杂环化合物及多环芳烃厌氧酸化降解性能研究[J]. 中国给水排水, 1997, 13(3): 13 ~ 16
- 4 付莉燕, 文湘华, 钱易. 厌氧条件下活性翠蓝生物降解性能的研究[J]. 上海环境科学, 2001, 20(6): 274 ~ 276
- 5 R. E. Speece. Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewater[M]. Arche Press Pub, 1996. 322
- 6 瞿福平, 张晓健, 何苗. 氯苯类有机物生物降解性及共代谢作用研究[J]. 中国环境科学, 1997, 17(2): 142 ~ 146
- 7 罗宇煊, 张甲耀, 管筱武. 嗜碱细菌降解木质素的复合碳源共代谢研究 I[J]. 城市环境与城市生态, 2000, 13(2): 8 ~ 10
- 8 M. Gupta, M. T. Suidan, D. A. Gupta et al. Biodegradation of Chloroform Under Methanogenic and Sulfate-Reducing Conditions Using Different Primary Substrates[C]. Wat. Environ. Fed. Annual Conference, 1994
- 9 巩宗强, 李培军, 王新. 苤在土壤中的共代谢降解研究[J]. 应用生态学报, 2001, 12(3): 447 ~ 450
- 10 王永杰, 李顺鹏, 沈标. 有机磷农药广谱活性降解菌的分离及其生理特性研究[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(2): 42 ~ 45
- 11 王, 张志杰, 孙先锋. 应用生物强化技术处理焦化废水难降解有机物[J]. 城市环境与城市生态, 2000, 13(6): 42 ~ 44
- 12 C. N. Sawyer, P. L. McCarty, G. F. Parkin. 环境工程化学[M]. 北京: 清华大学出版社, 2000
- 13 S. R. Guiot, S. S. Gorur, K. J. Kennedy. Nutritional and Environmental Factors Contributing to Microbial Aggregation During Upflow Anaerobic Sludge Bed Filter Reactor Startup[J]. Anaerobic Digestion, 1988, 47 ~ 53

An Efficient Way for Biodegradation of Refractory Organic Compounds: Cometabolism

Dong Chunjuan, Lu Bingnan, Chen Zhiqiang, Ma Li, Su Xiuying

(Department of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Helongjiang Harbin 150090, China)

治理技术

维生素 B₁₂ 发酵废液治理技术

高文惠, 罗敏, 陈学武, 侯建革, 王金宇, 张冬梅, 顾明霞

(河北科技大学 生物科学与工程学院, 河北 石家庄 050018)

[摘要] 筛选了一株能较好利用维生素 B₁₂ 发酵废液并能得到单细胞菌体蛋白 (SCP) 的菌株。通过正交试验研究该菌株, 得到其利用废液的最佳发酵条件。研究结果表明, 使用该菌株能大大降低发酵废液的化学需氧量 (COD), COD 去除率达到 90 % 以上, 有效减少或消除废液对环境的污染。

[关键词] 维生素 B₁₂; 发酵; 菌种筛选; 废液处理

[中图分类号] X787 [文献标识码] A [文章编号] 1006-1878(2003)02-0086-04

维生素 B₁₂ (VB₁₂) 消耗量很大, 而且随着畜牧业的发展和应用范围的扩大, 其消耗量一直在稳定增加。我国维生素 B₁₂ 的产量约占全球产量的 40 %, 生产厂家基本集中在河北省石家庄市, 经济效益超过一般的原料药。但是, 在维生素 B₁₂ 的发酵过程中, 要排放大量的废液, 如不加以治理势必污染环境。

利用微生物发酵法降低维生素 B₁₂ 发酵废液的 COD 并尝试生产单细胞蛋白饲料, 这一做法尚未见报道。我们有针对性地对几种菌株进行筛选, 将其中长势好的酵母菌株作为发酵、培养试验的目的菌株, 通过一系列正交试验, 最终得到既有较高菌体得率、又能将废液 COD 大大降低的方案, 对维生素 B₁₂ 废液的实际处理提供了一条可行的技术途径。

1 废液的性质与组成

试验用废液为某维生素 B₁₂ 生产厂的第一次板

框过滤废水, 废液组成见表 1。

由表 1 可看出, 废液中氮源充足, COD 较高, 所以, 进行菌种筛选时主要以其对 COD 去除率的高低为主要参考条件。

2 试验部分

2.1 试验材料与设备

葡萄糖、重铬酸钾、硫酸亚铁、硫酸亚铁铵、硫酸银等为分析纯, 硫酸镁、磷酸为化学纯, 蔗糖为食品级。

维生素 B₁₂ 发酵废液: 由石家庄某制药厂提供。

黑曲霉和酵母 Y₁、Y₂、Y₃ 由河北省科学院和本

[收稿日期] 2002-03-25; [修订日期] 2002-08-10

[基金项目] 河北省科技攻关课题 (01276718D)

[作者简介] 高文惠 (1963—), 女, 副教授, 河北省石家庄市人, 河北大学在读博士生, 主要从事发酵及分离技术研究。

Abstract: Cometabolism is an efficient way for biodegradation of refractory organic compounds. The mechanism, characteristics and affecting factors of cometabolism are presented. The proper primary substrate of cometabolism must be selected according to different refractory compounds. Moreover it should keep a proper ratio of primary substrate concentration to refractory compound concentration. The microorganism needs not only sufficient C, N, P nutrients, but also microelements in cometabolism. Taking into consideration and efficiently controlling the concerned factors are essential to reach higher efficiency of cometabolism.

Key words: refractory organic compounds; biological degradation; cometabolism; wastewater treatment